

## ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ ФОСФОЛИПИДНОГО БИСЛОЯ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ЛЕЙКОЦИТОВ КРЫС ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ УПОТРЕБЛЕНИИ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ E407a

ТКАЧЕНКО А.С.<sup>1</sup>, ПОСОХОВ Е.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков, Украина

<sup>2</sup>Национальный технический университет «Харьковский политехнический институт», г. Харьков, Украина

Вестник ВГМУ. – 2021. – Том 20, №1. – С. 40-45.

## THE STUDY OF THE PHOSPHOLIPID BILAYER STATE OF CELL MEMBRANES IN LEUKOCYTES OF RATS AFTER ORAL CONSUMPTION OF E407a FOOD ADDITIVE

TKACHENKO A.S.<sup>1</sup>, POSOKHOV Y.A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

<sup>2</sup>National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute», Kharkiv, Ukraine

Vestnik VGMU. 2021;20(1):40-45.

---

### Резюме.

Целью работы было оценить влияние перорально вводимого полуочищенного каррагинана (E407a) на гидрофобный участок фосфолипидного бислоя клеточных мембран лейкоцитов периферической крови.

Материал и методы. Флуоресцентный зонд (2-фенилфенантро[9,10-d]-1,3-оксазол) был использован для оценки состояния липидного бислоя мембран лейкоцитов, полученных от 8 взрослых крыс-самок линии WAG, которые перорально получали полуочищенный каррагинан в дозировке 140 мг на кг веса в течение 2 недель, и 8 контрольных животных.

Результаты. В ходе проведения работы установлено, что заметных изменений формы спектров флуоресценции зонда в ответ на пероральное введение полуочищенного каррагинана не наблюдалось. Это указывает на то, что пероральный прием E407a не вызывает изменений протонодонорной способности среды в липидных мембранах лейкоцитов в области расположения зонда. Уменьшение интенсивности флуоресценции зонда у крыс, которым перорально вводили пищевую добавку E407a, связано с уменьшением количества молекул зонда, которые связались с мембранами в течение 1 ч инкубации.

Заключение. Пероральное употребление полуочищенного каррагинана не вызывает изменений гидратации гидрофобного участка фосфолипидного бислоя мембран лейкоцитов.

*Ключевые слова: флуоресцентные зонды, упорядоченность мембраны, гидратация мембраны, лейкоциты.*

### Abstract.

Objectives. To assess the influence of orally administered semi-refined carrageenan (E407a) on the hydrophobic region of phospholipid bilayer in cell membranes of circulating white blood cells.

Material and methods. The fluorescent probe (2-phenyl-phenanthro[9,10-d]-1,3-oxazole) was used to evaluate the state of lipid bilayer in leukocytes obtained from 8 female adult WAG rats orally exposed to semi-refined carrageenan at a dose of 140 mg per kg of weight during 2 weeks, and 8 control animals.

Results. No noticeable changes in the shape of the probe fluorescence spectrum were observed in response to oral administration of semi-refined carrageenan. This indicates that oral intake of E407a causes no changes in the proton-donor ability of the medium in the lipid membranes of leukocytes in the region where the probe is located. A reduction in the emission intensity of the probe, attributed to the decrease in the number of the probe molecules bound to membranes during 1 h of incubation, was detected in the rats which were orally administered E407a food additive.

Conclusions. Oral consumption of semi-refined carrageenan doesn't cause any changes in the membrane hydration of the hydrophobic region of leukocyte phospholipid bilayer.

*Key words: fluorescent probes, membrane order, membrane hydration, white blood cells.*

Хронические воспалительные заболевания кишечника (ХВЗК), а именно болезнь Крона (БК) и язвенный колит (ЯК), характеризуются развитием воспалительного процесса на протяжении всего желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) или его части. При ЯК воспаление ограничено слизистой и подслизистой оболочками толстого кишечника, тогда как при БК воспаление распространяется на всю толщину стенки кишечника, поражая слизистую, подслизистую, мышечную и серозную оболочки как тонкого, так и толстого кишечника [1]. Заболеваемость и распространенность БК и ЯК продолжает расти. В 2017 году в мире было зарегистрировано около 6,8 миллиона случаев ХВЗК.

Этиология ХВЗК до сих пор полностью не изучена. Однако считается, что заболевание развивается на фоне генетической предрасположенности под действием определенных факторов окружающей среды. Метод исследования общегеномных ассоциаций (GWAS) значительно улучшил наше понимание этиологии и патогенеза ХВЗК, позволив идентифицировать более 200 локусов, связанных с высоким риском развития БК и ЯК [2].

Большинство факторов окружающей среды, которые способствуют развитию ХВЗК, действуют опосредованно, оказывая влияние на микрофлору кишечника. В первую очередь, на риски развития БК и ЯК влияет характер питания. Известно, что распространенность ХВЗК выше в промышленно развитых странах. Для населения таких регионов характерно гиперкалорийное питание с высоким потреблением продуктов животного происхождения, а также высоким содержанием в диете обработанных и сверхобработанных пищевых продуктов, а также пищевых добавок. Примером подобного рода пищевых добавок является каррагинан, который вызывает воспаление кишечника. При этом следует отметить, что изменения морфологической картины кишечника при каррагинан-индуцированном воспалении и ХВЗК схожи [3]. Каррагинаны представляют собой сульфатированные линейные гетерополисахариды, полученные из морских водорослей (преимущественно *Carpathicus alvarezii*), и состоят из остатков D-галактозы и 3,6-ангидрогалактозы, связанных либо  $\alpha 1,4$ -, либо  $\alpha 1,3$ -гликозидными связями. Промышленно производится каррагинан двух основных сортов: очищенный (Е407) и полуочищенный (Е407а). Как Е407, так и Е407а разрешены для пищевой

промышленности и используются в качестве гелеобразователей и загустителей. При этом многочисленные исследования на лабораторных животных продемонстрировали способность каррагинанов вызывать воспаление в желудочно-кишечном тракте [4]. Данные недавно опубликованного рандомизированного исследования акцентируют внимание на возможной роли каррагинанов в этиологии ХВЗК. Результаты данной работы показывают, что безкаррагинановая диета эффективна при лечении ЯК [5]. Таким образом, вопрос изучения вклада каррагинанов в этиопатогенез ХВЗК является актуальной проблемой современной медицины.

Несмотря на тот факт, что состояние плазмалеммы клеток оказывает существенное влияние на эффективное выполнение клеточных функций, на удивление слабо изучены вопросы нарушений структурно-функционального состояния мембран при развитии ХВЗК. В частности, известно, что при ХВЗК в эритроцитах и клетках слизистой оболочки толстого кишечника (колоноциты) изменяется липидный состав клеточных мембран [6, 7]. Кроме того, при БК наблюдается снижение текучести клеточных мембран в эритроцитах [7]. В наших предыдущих работах было показано, что каррагинан влиял на физико-химическое состояние клеточных мембран энтероцитов (увеличивались полярность и протонодонорная способность поверхностных полярных областей мембраны вследствие роста их гидратации) при употреблении лабораторными животными [8]. Вдобавок показана разница между влиянием Е407а непосредственно на клетки и влиянием перорально употребленного полуочищенного каррагинана на менее гидрофобные участки (т.е. на более гидратированные полярные области липидного бислоя) [9]. Поэтому актуальным является вопрос изучения действия Е407а на более гидрофобные участки мембраны лейкоцитов, локализованных в более глубоких регионах мембран, которые теоретически должны быть менее подвержены действию экзогенных факторов.

Цель работы – изучение физико-химического состояния гидрофобного участка фосфолипидного бислоя клеточной мембраны лейкоцитов у крыс на фоне двухнедельного употребления пищевой добавки Е407а.

## Материал и методы

Эксперимент проводили на половозрелых крысах-самках линии WAG, которые были раз-

делены на две равные группы. Животные опытной группы ( $n=8$ ) употребляли *per os* пищевую добавку E407a в дозировке 140 мг на кг веса в течение 2 недель. Животные контрольной группы ( $n=8$ ) содержались на стандартном рационе питания и не потребляли полуочищенного каррагинана. Вес крыс колебался в пределах 160-190 г. За две недели до начала эксперимента животные помещались в виварий для акклиматизации (4 крысы в клетке; температура  $24\pm 2^\circ\text{C}$ ; относительная влажность – 50-60%). До забоя по окончании эксперимента животные содержались в указанных условиях вивария. Кровь крыс собиралась в стерильные вакутейнеры, содержащие дикалиевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (IMPROVACUTER Evacuated EDTA  $\text{K}_2$  Spray Dried PET Tubes, Гуачжоу, КНР). Затем 100 мкл крови каждого животного использовали для получения суспензии лейкоцитов. Сначала кровь лизировали с помощью лизирующего раствора (BD FACS™ Lysing Solution, Becton, Dickinson and Company BD Biosciences, 9029989, Сан Хосе, США) и дважды отмывали в натрий-фосфатном буфере (PBS, pH 7,4; BD™ Cell Wash, Польша). Клетки ресуспендировали в PBS, и полученную суспензию лейкоцитов инкубировали с зондом PH1 (2-фенилфенантро[9,10-d]-1,3-оксазол). Клетки флуоресцентно метили с помощью следующей процедуры: аликвоту исходного раствора зонда в ацетонитриле добавляли к суспензии лейкоцитов для достижения конечной концентрации зонда  $\sim 5 \times 10^{-6}$  моль/л. Молярное отношение липидов к зонду составляло приблизительно 200:1. Перед измерениями флуоресценции суспензии клетки инкубировали с зондом при комнатной температуре в течение 1 часа. Спектры флуоресценции в суспензиях лейкоцитов, полученных из крови животных обеих групп, регистрировали на флуоресцентном спектрометре «Thermo Scientific Lumina», производства фирмы «Thermo Fisher Scientific» (Уолтем, США), в диапазоне 350-630 нм с шагом 0,1 нм. Данные собирались с интервалом 0,02 с. Щели на возбуждающем и эмиссионном монохроматорах составляли 5 и 10 нм соответственно. Длина волны возбуждения равнялась 330 нм. Флуоресцентный зонд PH1 (2-фенилфенантро[9,10-d]-1,3-оксазол) был использован, поскольку форма его спектра флуоресценции зависит от протондонорной способности микроокружения [10, 11]. Отношение интенсивностей наиболее коротковолновой полосы флуоресценции и наиболее длинновол-

новой полосы флуоресценции ( $I_s/I_L$ ) зонда PH1 используется в качестве параметра для оценки изменений протондонорной способности микроокружения зонда: например, с ростом протондонорной способности среды отношение  $I_s/I_L$  уменьшается [10, 11].

Предполагаемая локализация зонда PH1 в липидных мембранах: область жирнокислотных цепей фосфолипидов и их концевых метильных групп (т.е. гидрофобный участок фосфолипидного бислоя) [10, 11].

Принимая во внимание протондонорную способность молекулы воды и их способность проникать внутрь липидного бислоя, заполняя пустоты, образовавшиеся в результате дефектов упаковки жирнокислотных цепей фосфолипидов [12], таким образом составляя межцепочечную гидратацию, зонд PH1 может быть использован для обнаружения изменений гидратации липидных мембран [10, 11]. Учитывая, что изменения гидратации мембраны, в свою очередь, связаны с изменениями упорядоченности мембраны [12], зонд может указывать и на последние.

При подготовке эксперимента производили расчет мощности выборки. Для данной цели использовали программу «G\*Power 3». Задавались значения планируемой мощности исследования (0,8) и ошибки I рода (5%).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «Graph Pad Prism 5.0». Нормальность распределения оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Использовали непараметрический критерий Манна-Уитни для сравнения показателей двух независимых групп. Разница считалась статистически достоверной при  $p < 0,05$ .

Протокол эксперимента рассмотрен и одобрен на заседании Комиссии по биоэтике Харьковского национального медицинского университета (г. Харьков, Украина). Работа выполнялась в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и иных научных целях» (ETS 123).

## Результаты

Форма спектров флуоресцентного зонда PH1 в мембранах лейкоцитов незначительно различалась между лейкоцитами экспериментальной группы и контрольных животных (рис. 1). Сравнение численных значений соотношений  $I_s/I_L$  показало, что статистически достоверной разницы

( $p>0,05$ ) между соответствующими показателями исследуемых групп не обнаружено (табл. 1). Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха. Подобные результаты указывают на то, что пероральное воздействие E407a в течение двух недель не влияло на протонодонорную способность мембран клеток лейкоцитов крысы в области мембраны, где находится зонд RH1, а именно в гидрофобной области липидного бислоя.

Тем не менее, заметное статистически достоверное (практически в 1,4 раза,  $p=0,0002$ ) снижение интенсивности флуоресценции зонда RH1 наблюдалось в суспензиях лейкоцитов

крыс на фоне употребления полуочищенного каррагинана (E407a), по сравнению с клетками, полученными от интактных животных контрольной группы (рис. 1, табл. 1). Такое уменьшение интенсивности флуоресценции, обнаруженное у животных, употреблявших E407a, указывает на уменьшение количества молекул зонда, связавшихся с мембранами в течение 1 часа инкубации. Возможной причиной обсуждаемого снижения скорости связывания зонда с мембранами лейкоцитов экспериментальной группы крыс может быть увеличение гидратации более полярных, расположенных ближе к поверхности, участков мембран лейкоцитов.

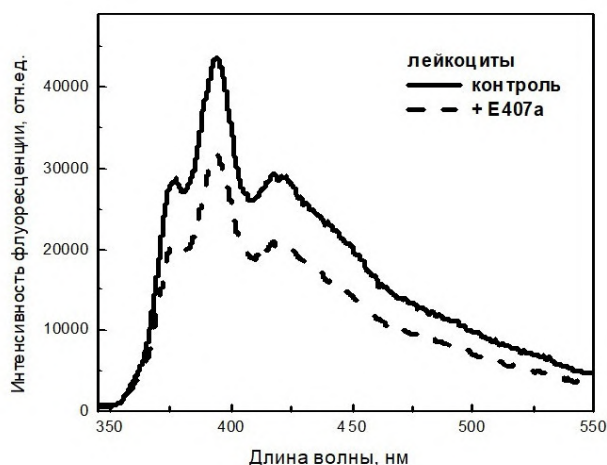


Рисунок 1 – Типичные спектры флуоресценции зонда RH1 в суспензиях лейкоцитов: (а) контрольная группа (сплошная линия), (б) животные, перорально употреблявшие E407a в течение двух недель (пунктирная линия).

## Обсуждение

С одной стороны, один из наших экспериментальных результатов (отсутствие изменения формы спектра флуоресценции) свидетельствует об отсутствии изменений гидратации мембраны в области жирнокислотных цепей фосфолипидов и их концевых метильных групп в случае клеточных мембран лейкоцитов периферической крови, полученных от крыс, которые перорально употребляли пищевую добавку E407a в течение двух недель. Обсуждаемое отсутствие изменений гидратации мембраны указывает на отсутствие изменений в упорядоченности липидов гидрофобного участка мембраны лейкоцитов.

С другой стороны, изменение интенсивности флуоресценции зонда RH1 предполагает увеличение гидратации более полярных, расположенных ближе к поверхности, участков цитоплазматической мембраны лейкоцитов. Данная

Таблица 1 – Соотношение интенсивностей наиболее коротковолновой полосы флуоресценции и наиболее длинноволновой полосы флуоресценции ( $I_s/I_L$ ) зонда RH1, а также интенсивность максимума флуоресценции зонда в мембранах лейкоцитов крыс на фоне перорального употребления пищевой добавки E407a (медиана [интерквартильный размах])

Группа и количество животных	Зонд RH1	
	Соотношение $I_s/I_L$ ( $I_{376}/I_{418}$ )	Интенсивность максимума флуоресценции ( $I_{394}$ ) (условные единицы)
Контрольная группа (n=8)	1,03 [0,99; 1,05]	43624 [42344; 44569]
Употребление E407a в течение 2 недель (n=8)	1,02 [0,98; 1,05], $p=0,8741$	31449 [31014; 32960], $p=0,0002$

Примечание: разница между двумя независимыми группами считалась статистически достоверной при значениях  $p<0,05$ .

гипотеза хорошо согласуется с полученным ранее результатом, указывающим на то, что пероральное употребление E407a повлияло на более полярные области мембран лейкоцитов (в печати). Так, увеличение полярности и протонодонорной способности микроокружения флуоресцентного зонда O1O (2-(2'-гидроксибензил)-5-фенил-1,3-оксазол) указывает на увеличение гидратации в области глицериновых остатков фосфолипидов и, таким образом, свидетельствует в пользу снижения упорядоченности липидного бислоя мембраны.

Подобные изменения упорядоченности клеточных мембран наблюдаются при апоптозе, для которого характерно снижение значений этого показателя клеточных мембран [13]. В частности, было показано, что активация каспазы-3, играющей ключевую роль в реализации апоптотической гибели клеток посредством протеолиза клеточных компонентов, коррелирует с уменьшением упорядоченности фосфолипидов во внешнем слое клеточных мембран [14]. Следует отметить, что активация апоптотических процессов в лейкоцитах периферической крови на фоне употребления животными пищевой добавки каррагинан подтверждена экспериментально [15].

Нарушения состояния клеточных мембран, продемонстрированные в данном и других наших исследованиях, аналогичны тем, которые наблюдаются у пациентов с ХВЗК. Это позволяет предположить, что вклад каррагинана в развитие БК и ЯК может быть обусловлен модификациями состояния мембран лейкоцитов. Однако дальнейшие экспериментальные и клинические исследования необходимы для выяснения роли каррагинана в этиопатогенезе ХВЗК.

*Исследование выполнено в рамках НИР Харьковского национального медицинского университета (г. Харьков, Украина) «Биохимические механизмы индукции воспаления кишечника и средства его коррекции» (№ государственной регистрации 0120U102645).*

*The study was conducted within the frames of the research work of Kharkiv National Medical University (Kharkiv, Ukraine) «Biochemical mechanisms of the intestine inflammation induction and means of its correction» (№GR 0120U102645).*

## Заключение

Таким образом, пероральное употребление пищевой добавки E407a не вызывает изменений гидратации гидрофобного участка фосфолипидного бислоя мембран лейкоцитов на фоне увеличения гидратации более полярных участков липидного бислоя.

## Литература

1. Qin, X. Why is damage limited to the mucosa in ulcerative colitis but transmural in Crohn's disease? / X. Qin // World J. Gastrointest Pathophysiol. – 2013 Aug. – Vol. 4, N 3. – P. 63–64.
2. IBD risk loci are enriched in multigenic regulatory modules encompassing putative causative genes / Y. Momozawa [et al.] // Nat. Commun. – 2018 Jun. – Vol. 9, N 1. – P. 2427.
3. Implications of the westernized diet in the onset and progression of IBD / F. Rizzello [et al.] // Nutrients. – 2019 May. – Vol. 11, N 5. – P. 1033.
4. Tobacman, J. K. Review of harmful gastrointestinal effects of carrageenan in animal experiments / J. K. Tobacman // Environ Health Perspect. – 2001 Oct. – Vol. 109, N 10. – P. 983–994.
5. A randomized trial of the effects of the no-carrageenan diet on ulcerative colitis disease activity / S. Bhattacharyya [et al.] // Nutr Healthy Aging. – 2017 Mar. – Vol. 4, N 2. – P. 181–192.
6. Ileal and colonic fatty acid profiles in patients with active Crohn's disease / S. Bühner [et al.] // Gut. – 1994 Oct. – Vol. 35, N 10. – P. 1424–1428.
7. Aozaki, S. Decreased membrane fluidity in erythrocytes from patients with Crohn's disease / S. Aozaki // Gastroenterol Jpn. – 1989 Jun. – Vol. 24, N 3. – P. 246–254.
8. A study of enterocyte membranes during activation of apoptotic processes in chronic carrageenan-induced gastroenterocolitis / A. Tkachenko [et al.] // Med. Glas. (Zenica). – 2018 Aug. – Vol. 15, N 2. – P. 87–92.
9. Effects of semi-refined carrageenan (food additive E407a) on cell membranes of leukocytes assessed in vivo and in vitro / A. Tkachenko [et al.] // Med. Glas. (Zenica). – 2020 Jun. – Vol. 18, N 1. – P. 32–39.
10. Posokhov, Y. O. Derivatives of 2,5-diaryl-1,3-oxazole and 2,5-diaryl-1,3,4-oxadiazole as environment-sensitive fluorescent probes for studies of biological membranes / Y. O. Posokhov, A. Kyrychenko, Y. Korniyenko // Reviews in Fluorescence 2017 / ed. C. D. Geddes. – Switzerland, AG : Springer Nature, 2018. – P. 199–230.
11. Posokhov, Y. Fluorescent probes sensitive to changes in the cholesterol-to-phospholipids molar ratio in human platelet membranes during atherosclerosis / Y. Posokhov // Methods Appl. Fluoresc. – 2016 Sep. – Vol. 4, N 3. – 034013.
12. Ho, C. Hydration at the membrane protein-lipid interface / C. Ho, C. D. Stubbs // Biophys. J. – 1992 Oct. – Vol. 63, N 4. – P. 897–902.
13. Detection of apoptosis through the lipid order of the outer plasma membrane leaflet / Z. Darwich [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 2012 Dec. – Vol. 1818, N 12. – P. 3048–3054.
14. Caspase-3 activation decreases lipid order in the outer

plasma membrane leaflet during apoptosis: A fluorescent probe study / K. A. Pyrshev [et al.] // Biochim. Biophys. Acta Biomembr. – 2017 Oct. – Vol. 1859, N 10. – P. 2123–2132.

15. Kopanytsia, O. M. Carrageenan induces cell death in rats blood / O. M. Kopanytsia, M. I. Marushchak, I. Y. Krynytska // Int. J. Med. Med. Res. – 2018 Jul. – Vol. 4, N 1. – P. 67–70.

Поступила 05.11.2020 г.

Принята в печать 15.02.2021 г.

## References

- Qin X. Why is damage limited to the mucosa in ulcerative colitis but transmural in Crohn's disease? World J Gastrointest Pathophysiol. 2013 Aug;4(3):63-64. doi:10.4291/wjgp.v4.i3.63
- Momozawa Y, Dmitrieva J, Théâtre E, Deffontaine V, Rahmouni S, Charlotiaux B, et al. IBD risk loci are enriched in multigenic regulatory modules encompassing putative causative genes. Nat Commun. 2018 Jun;9(1):2427. doi: 10.1038/s41467-018-04365-8
- Rizzello F, Spisni E, Giovanardi E, Imbesi V, Salice M, Alvisi P, et al. Implications of the westernized diet in the onset and progression of IBD. Nutrients. 2019 May;11(5):1033. doi: 10.3390/nu11051033
- Tobacman JK. Review of harmful gastrointestinal effects of carrageenan in animal experiments. Environ Health Perspect. 2001;109(10):983-94. doi:10.1289/ehp.01109983
- Bhattacharyya S, Shumard T, Xie H, Dodda A, Varady KA, Feferman L, et al. A randomized trial of the effects of the no-carrageenan diet on ulcerative colitis disease activity. Nutr Healthy Aging. 2017 Mar;4(2):181-92. doi: 10.3233/NHA-170023
- Bühner S, Nagel E, Körber J, Vogelsang H, Linn T, Pichlmayr R. Ileal and colonic fatty acid profiles in patients with active Crohn's disease. Gut. 1994 Oct;35(10):1424-8.
- Aozaki S. Decreased membrane fluidity in erythrocytes from patients with Crohn's disease. Gastroenterol Jpn. 1989 Jun;24(3):246-54.
- Tkachenko A, Marakushyn D, Kalashnyk I, Korniyenko Y, Onishchenko A, Gorbach T, et al. A study of enterocyte membranes during activation of apoptotic processes in chronic carrageenan-induced gastroenterocolitis. Med Glas (Zenica). 2018 Aug;15(2):87-92. doi: 10.17392/946-18
- Tkachenko A, Onishchenko A, Roshal A, Nakonechna O, Chumachenko T, Posokhov Y. Effects of semi-refined carrageenan (food additive E407a) on cell membranes of leukocytes assessed in vivo and in vitro. Med Glas (Zenica). 2020 Jun;18(1):32-9. doi: 10.17392/1213-21
- Posokhov YO, Kyrychenko A, Korniyenko Y. Derivatives of 2,5-diaryl-1,3-oxazole and 2,5-diaryl-1,3,4-oxadiazole as environment-sensitive fluorescent probes for studies of biological membranes. In: Geddes CD, ed. Reviews in Fluorescence 2017. Switzerland, AG: Springer Nature; 2018. P. 199-230.
- Posokhov Y. Fluorescent probes sensitive to changes in the cholesterol-to-phospholipids molar ratio in human platelet membranes during atherosclerosis. Methods Appl Fluoresc. 2016 Sep;4(3):034013. doi: 10.1088/2050-6120/4/3/034013
- Ho C, Stubbs CD. Hydration at the membrane protein-lipid interface. Biophys J. 1992 Oct;63(4):897-902. doi: 10.1016/S0006-3495(92)81671-5
- Darwich Z, Klymchenko AS, Kucherak OA, Richert L, Mély Y. Detection of apoptosis through the lipid order of the outer plasma membrane leaflet. Biochim Biophys Acta. 2012 Dec;1818(12):3048-54. doi: 10.1016/j.bbammem.2012.07.017
- Pyrshev KA, Yesylevskyy SO, Mély Y, Demchenko AP, Klymchenko AS. Caspase-3 activation decreases lipid order in the outer plasma membrane leaflet during apoptosis: A fluorescent probe study. Biochim Biophys Acta Biomembr. 2017;1859(10):2123-32. doi: 10.1016/j.bbammem.2017.08.002
- Kopanytsia OM, Marushchak MI, Krynytska IY. Carrageenan induces cell death in rats blood. Int J Med Med Resc. 2018 Jul;4(1):67-70. doi: 10.11603/ijmmr.2413-6077.2018.1.8979

Submitted 05.11.2020

Accepted 15.02.2021

## Сведения об авторах:

Ткаченко А.С. – к.м.н., доцент, и.о. директора НИИ экспериментальной и клинической медицины Харьковского национального медицинского университета;

Посохов Е.А. – д.х.н., старший преподаватель Учебно-научного института химических технологий и инженерии Национального технического университета «Харьковский политехнический институт».

## Information about authors:

Tkachenko A.S. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, acting director of the Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Kharkiv National Medical University;

Posokhov Y.O. – Doctor of Chemical Sciences, senior lecturer of the Educational and Scientific Institute of Chemical Technology and Engineering, National Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute».

**Адрес для корреспонденции:** Украина, 61022, г. Харьков, пр. Науки, 4, Харьковский национальный медицинский университет, НИИ экспериментальной и клинической медицины. E-mail: antontkachenko555@gmail.com – Ткаченко Антон Сергеевич.

**Correspondence address:** Ukraine, 661022, Kharkiv, 4 Nauky ave., Kharkiv National Medical University, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine. E-mail: antontkachenko555@gmail.com – Anton S. Tkachenko.